

气相色谱法测定丝瓜子中4种脂肪酸的含量

刘海霞,裴香萍*,李慧峰,严婧,孟霜,王丽
(山西中医学院,太原 030024)

[摘要] 目的:建立气相色谱法测定不同产地丝瓜子脂肪油中4种脂肪酸含量的方法,为丝瓜子质量评价和标准制定提供实验依据。方法:采用HP-FFAP毛细管色谱柱(0.2 mm×50 m,0.3 μm),载气高纯度氮气,流速0.5 mL·min⁻¹,分流比23:1,柱温235℃,进样口温度250℃,初始温80℃,FID检测器,温度250℃,空气流量450 mL·min⁻¹,氢气流量45 mL·min⁻¹。结果:丝瓜子中棕榈酸质量分数为2.325%~2.985%;硬脂酸质量分数为1.198%~1.771%,油酸质量分数为2.212%~5.159%,亚油酸质量分数为7.383%~13.578%。结论:该方法准确、可靠、重复性好,可用于丝瓜子脂肪油中亚油酸、油酸、棕榈酸、硬脂酸的质量控制。

[关键词] 丝瓜子;气相色谱法;油酸;亚油酸;棕榈酸;硬脂酸

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)14-0072-04

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2014140072

Determination of Content of Four Kinds of Fatty Acids in *Luffa cylindrica* Seed by GC

LIU Hai-xia, PEI Xiang-ping*, LI Hui-feng, YAN Jing, MENG Shuang, WANG Li

[收稿日期] 20131202(019)

[基金项目] 山西省食品药品监督管理局项目(2012014A)

[第一作者] 刘海霞,在读硕士,Tel:0351-2272284,E-mail:liuhaixin.169@163.com

[通讯作者] *裴香萍,硕士,副教授,从事中药鉴定及质量标准研究工作,Tel:0351-2272284,E-mail:peixp69@163.com

检测。

为了全面反应色谱峰信息,利用DAD检测器对供试液在190~400 nm波长范围信息进行采集,分析其全波长扫描的三维和等高图谱,结果显示在245 nm条件下色谱峰信息较多,基线平稳,因此选择该波长为检测波长。

4 结论

本研究建立了红花龙胆药材的HPLC指纹图谱,共标定了40个共有峰,计算了12批贵州不同产地红花龙胆药材的相似度。均>0.9,反应了药材在化学成分组成上差异不大。对建立的HPLC指纹图谱进行方法学考察,显示该方法具有较好的精密度、稳定性和重复性。将HPLC指纹图谱运用于红花龙胆药材的鉴定及质量评价中,能够较直观和全面地反映红花龙胆药材所含化学成分的种类与数量。有研究报道红花龙胆中尚含马钱苷酸、獐牙菜苦苷、槲皮素、熊果酸、没食子酸乙酯等成分^[3-4],采用对照品进行对比鉴定发现,仅有马钱苷酸在部分批次药

材中出现,其余均未检测到,可能是上述成分在红花龙胆药材中含量较少或检测条件等限制,有待进一步研究。红花龙胆指纹图谱的建立可为其药材及其为原料的中药制剂的质量控制提供准确、有效的方法。

[参考文献]

- [1] 贵州省药品监督管理局.贵州省中药材、民族药质量标准[M].贵阳:贵州科技出版社,2003:184.
- [2] 国家中医药管理局《中华本草》编委会.中华本草.第三十五卷-苗药卷[M].贵阳:贵州科技出版社:2005,12:328.
- [3] 陈云,王国凯,武臻,等.红花龙胆化学成分研究[J].中国中药杂志,2013,38(3):362.
- [4] Xu M, Wang D, Zhang Y J, et al. Iridoidal glucosides from *Gentiana rhodantha* [J]. J Nat Prod Res, 2008, 10(6):491.

[责任编辑 顾雪竹]

(Shanxi University of Traditional Chinese Medicine, Taiyuan 030024, China)

[Abstract] **Objective:** To establish a method for the determination of the content of four kinds of fatty acids in *Luffa cylindrica* seed by GC, and provide evidence for evaluating quality and criterion. **Method:** The GC separation was performed on a HP-FFAP column (0.2 mm × 50 m, 0.3 μm) at 235 °C, inject temperature at 250 °C, FID detector temperature was 250 °C. Gas as N₂ (99.99%); the flow rate was 0.5 mL·min⁻¹; split ratio 23:1. **Result:** The content of palmitic acid in *L. cylindrica* seed were 2.325%-2.985%, octadecanoic acid 1.198%-1.771%, oleic acid 2.212%-5.159%, linoleic acid 7.383%-13.578%. **Conclusion:** The method can be used to control the quality of four kinds fatty acids in of *L. cylindrica* seed, which is accurate, convenient and repeatable.

[Key words] *Luffa cylindrica* seeds; GC; oleic acid; linoleic acid; palmitic acid; octadecanoic acid

丝瓜子为葫芦科一年生攀援植物丝瓜的干燥种子,别名乌牛子。丝瓜子性平,味微甘,具有强心、利水、除热的功效,用于治疗肢面浮肿、石淋、肠风、痔瘕、咳嗽痰多、蛔虫病、月经不调、肝硬化腹水、黄疸、腰痛等^[1]。丝瓜作为药食两用的植物,全国各地均有栽培,研究报道丝瓜子中含有脂肪酸、多糖、氨基酸、三萜皂苷等多种成分^[2],丝瓜子油中主要含有油酸、亚油酸、棕榈酸、硬脂酸等多种脂肪酸,其中亚油酸具有降血脂、降血压、促进微循环的作用。闵嗣璠等^[3]采用溶剂法和超声辅助法对瓜子油的提取率进行了比较研究。卢奎等^[4]采用回流提取的方法对丝瓜子油进行了理化性质及脂肪酸组成分析和测定。目前对丝瓜子油中脂肪酸的含量测定还未见报道。本实验采用气相色谱法对不同产地丝瓜子中油酸、亚油酸、棕榈酸、硬脂酸的含量进行了测定,为丝瓜子的质量控制提供参考。

1 材料

美国安捷伦 4890D 系列气相色谱仪; DHG-9075A 型电热鼓风干燥箱(上海一恒科技有限公司), HS10260D 型超声波清洗器, HANGPING FA2104 分析天平(上海越平)。

油酸(批号 111621-201203)、亚油酸(111622-201203)、棕榈酸(批号 190029-201001)、硬脂酸(批号 190032-201202)由国家标准物质中心提供,供含量测定用。其他试剂均为分析纯。

丝瓜子样品购自湖北、山西、河北、四川、安徽等地,经山西中医学院裴香萍老师鉴定为丝瓜 *Luffa cylindrica* (L.) Roem. 的干燥种子。

2 方法与结果

2.1 脂肪油的提取 取不同产地丝瓜子样品 40 g, 粉碎,过 2 号筛,精密称定,置圆底烧瓶中,先后加入石油醚(60~90 °C)400,300 mL,回流提取 2 次,每

次 30 min,滤过,合并滤液,回收石油醚(60~90 °C)至无液体流出,即得深绿色脂肪油,计算收油率,结果见表 1。

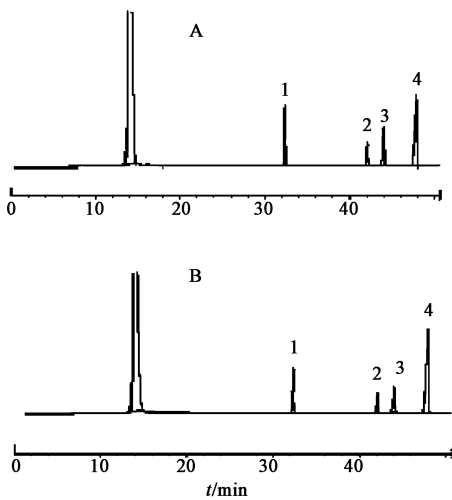
表 1 不同产地丝瓜子含油量测定

批号(产地)	取样量/g	收油量/g	收油率/%
20120710(湖北)	40.12	6.88	17.15
20121102(四川)	40.61	5.62	13.84
20120927(河北)	40.23	6.54	16.26
20120701(湖北)	40.36	6.82	16.90
20120802(湖北)	40.21	6.23	15.49
20120927(山西)	40.16	5.82	14.49
20120831(山西)	40.39	6.24	15.45
20121008(河北)	40.28	6.78	16.83
20121005(河北)	40.19	6.42	15.97
20121104(安徽)	40.82	5.98	14.65

2.2 色谱条件 HP-FFAP 毛细管色谱柱(0.2 mm × 50 m, 0.3 μm),进样口温度 230 °C, FID 检测器,温度 250 °C,分流比 23:1,空气流量 450 mL·min⁻¹,氢气流量 45 mL·min⁻¹,流速 0.5 mL·min⁻¹。柱温初温 80 °C,保持 1 min,以 20 °C·min⁻¹升至 235 °C,保持 40 min,载气氮气(99.99%)。经计算各对照品及样品对应色谱峰之间的分离度均 > 1.5。对照品及供试品色谱峰见图 1。

2.3 对照品溶液的制备 精密称取油酸对照品 51.68 mg、亚油酸 31.90 mg、棕榈酸 9.21 mg、硬脂酸 20.77 mg,置于 25 mL 量瓶中,加入 14% BF₃ 甲醇溶液 1.5 mL,于 60 °C 水浴锅中加热 15 min,取出,放冷,精密加入正辛烷 2.5 mL,充分振摇后,加饱和食盐水使正辛烷层置瓶颈处。抽取上层溶液过微孔滤膜,得混合对照品溶液。

2.4 供试品溶液的制备 取丝瓜子脂肪油约 80



A. 混合对照品; B. 丝瓜子(20120927)供试品;
1. 棕榈酸; 2. 硬脂酸; 3. 油酸; 4. 亚油酸

图1 丝瓜子 GC

mg, 精密称定, 置 25 mL 锥形瓶中, 加入 0.5 mol·L⁻¹ KOH 甲醇溶液 1 mL, 于 60 °C 水浴锅中加热 30 min, 取出, 放冷。加入 14% BF₃ 甲醇溶液 1 mL, 于 60 °C 水浴锅中加热 15 min, 取出, 放冷, 精密加入正辛烷 5 mL, 充分振摇后, 加饱和食盐水使正辛烷层置瓶颈处。

2.5 线性关系的考察 精密吸取对照品溶液(棕榈酸 3.684 g·L⁻¹、硬脂酸 8.308 g·L⁻¹、油酸 20.672 g·L⁻¹、亚油酸 12.76 g·L⁻¹) 0.2, 0.4, 0.8, 1.2, 1.6 mL, 置 2 mL 量瓶中, 加入正辛烷定容, 摇匀, 用 0.45 μm 微孔滤膜过滤后依次分别注入气相色谱仪, 测定峰面积。以其进样量(X)为横坐标, 峰面积积分值(Y)为纵坐标, 绘制标准曲线, 得到 4 种脂肪酸的回归方程。Y_{油酸} = 353.46X + 20.206 (r = 0.999 1), Y_{亚油酸} = 334.13X + 16.348 (r = 0.999 5), Y_{棕榈酸} = 433.44X - 4.9947 (r = 0.999 3), Y_{硬脂酸} = 374.28X + 6.9355 (r = 0.999 1); 结果表明油酸在 2.067 2 ~ 20.672 μg, 亚油酸在 1.276 ~ 12.76 μg, 棕榈酸在 0.368 4 ~ 3.684 μg, 硬脂酸在 0.830 8 ~ 8.308 μg 呈良好线性关系。

2.6 精密度试验 取混合对照品(棕榈酸、硬脂酸、油酸、亚油酸质量浓度分别为 1.473 6, 3.323 2, 8.268 8, 5.104 0 g·L⁻¹), 重复进样 6 次, 测定峰面积, 结果棕榈酸、硬脂酸、油酸、亚油酸的 RSD 分别为 1.968%, 1.877%, 1.670%, 1.829%。表明此法精密度良好。

2.7 稳定性试验 以四川产丝瓜子油样品为测定对象, 精密称取一份样品, 按 2.4 项下方法制备, 于配制后 0, 2, 4, 8, 10 h 进样, 测定峰面积积分值, 结

果棕榈酸、硬脂酸、油酸、亚油酸的 RSD 分别为 1.12%, 1.04%, 1.34%, 1.21%。表明样品溶液在 10 h 基本稳定。

2.8 重复性试验 精密称取四川产丝瓜子油样品 6 份, 按 2.4 项下的方法制备供试品溶液, 过微孔滤膜后进样, 测定峰面积, 计算 4 种脂肪酸的含量及 RSD, 棕榈酸平均含量为 2.691%, RSD 2.68%; 硬脂酸平均为 1.450%, RSD 2.36%; 油酸平均含量为 3.546%, RSD 2.22%; 亚油酸平均含量为 7.383%, RSD 2.43%; 结果表明此法重复性良好。

2.9 加样回收率试验 精密称定已知棕榈酸(2.691%)、硬脂酸(1.450%)、(油酸 3.546%)、亚油酸(7.383%)含量的油样品 40 mg, 精密加入棕榈酸 1.2 mg、硬脂酸 0.6 mg、油酸 1.5 mg、亚油酸 3.1 mg, 按 2.4 项下方法制备, 测定其含量, 并计算回收率。见表 2。

2.10 样品测定 取 10 个不同产地的丝瓜子样品, 按照 2.4 项下的方法制备供试品溶液, 按 2.2 项下方法测定, 结果见表 3。

3 讨论

在供试品(批号 20121005)脂肪油的提取中, 分别考察了石油醚回流 1 次, 回流 2 次与回流 3 次的方法。回流 1 次的供试品, 提油率较低(10.8%), 而 2 次回流后的提油率升高(15.97%), 3 次回流与两次回流的提油率无明显差别。为降低成本, 本实验采取了石油醚 2 次回流的方法。

脂肪油在加入 BF₃ 时起到催化效果, 文献报道^[5], 一般加入 BF₃ 1 mL 时可达催化效果, 而在测定中多次实验考察, 在加入 BF₃ 甲醇溶液 1 mL 后大部分批次的样品脂肪油并未能完全酯化, 多数样品在加入了 1.5 mL BF₃ 才能完全酯化。

测定了丝瓜子的收油率, 其中以湖北产(批号 20120710)的样品收油率最高(17.15%), 脂肪酸含量也比较高; 经与其他产地的药材对比发现, 湖北产的种子相对比较饱满, 种子出油率及其脂肪酸含量相对也较高, 因此在选购丝瓜子药材时必须注意其外观形状特征。

先后采用了多种色谱柱, PEG-20 毛细管色谱柱(0.5 mm, 15 m)、PEG-20 毛细管色谱柱(0.25 mm, 30 m)、HP-FFAP 毛细管色谱柱(0.2 mm, 50 m)等, 实验结果表明 HP-FFAP 色谱柱(0.2 mm, 50 m)可使供试品中 4 种脂肪酸达到基线分离, 分离度均 > 1.5, 因此本实验选择了 HP-FFAP(0.2 mm, 50 m)色谱柱。

表2 丝瓜子脂肪油中4种成分加样回收率试验

脂肪酸种类	取油量/mg	样品中量/mg	加入量/mg	测得量/mg	回收率/%	平均值/%	RSD/%
棕榈酸	39.9	1.073 7	1.2	2.243 7	97.5	97.70	2.60
	40.1	1.079 1	1.2	2.309 1	102.5		
	41.2	1.108 7	1.2	2.261 9	96.1		
	40.0	1.076 4	1.2	2.254 8	98.2		
	39.2	1.054 9	1.2	2.210 5	96.3		
	38.5	1.036	1.2	2.183 2	95.6		
硬脂酸	39.9	0.578 5	0.6	1.164 1	97.6	100.02	3.14
	40.1	0.581 4	0.6	1.203 6	103.7		
	41.2	0.597 4	0.6	1.178 2	96.8		
	40.0	0.580 0	0.6	1.163 8	97.3		
	39.2	0.568 4	0.6	1.177 4	101.5		
	38.5	0.558 2	0.6	1.177 4	103.2		
油酸	39.9	1.414 9	1.5	2.863 9	96.6	97.57	2.03
	40.1	1.421 9	1.5	2.935 4	100.9		
	41.2	1.461 0	1.5	2.943 0	98.8		
	40.0	1.418 4	1.5	2.876 4	97.2		
	39.2	1.390 0	1.5	2.837 5	96.5		
	38.5	1.365 2	1.5	2.796 2	95.4		
亚油酸	39.9	2.945 8	3.1	5.900 1	95.3	97.18	2.77
	40.1	2.960 6	3.1	6.135 0	102.4		
	41.2	3.041 8	3.1	6.002 3	95.5		
	40.0	2.953 2	3.1	5.938 5	96.3		
	39.2	2.894 1	3.1	5.867 0	95.9		
	38.5	2.842 5	3.1	5.871 2	97.7		

表3 丝瓜子脂肪油中4种脂肪酸成分含量测定 %

批号及产地	棕榈酸	硬脂酸	油酸	亚油酸	总量
20120710(湖北)	2.728	1.354	3.308	13.578	20.968
20121102(四川)	2.691	1.450	3.545	7.383	15.069
20120927(河北)	2.665	1.299	3.357	13.105	20.426
20120701(湖北)	2.602	1.199	3.502	12.313	19.616
20120802(湖北)	2.706	1.376	3.422	10.777	18.281
20120927(山西)	2.985	1.771	3.230	8.759	16.745
20120831(山西)	2.878	1.465	5.159	10.627	20.129
20121008(河北)	2.758	1.581	4.504	11.576	20.419
20121005(河北)	2.356	1.198	2.212	8.325	14.091
20121104(安徽)	2.325	1.210	3.815	8.693	16.043

参考有关文献报道^[6-8],考察了多种程序升温及恒温测定的方法,由于样品中4种脂肪酸的出峰时间均在230℃以后,而230℃以前除了溶剂峰外无其他色谱峰,因此本实验采用起始温度为80℃,升温速度20℃·min⁻¹,最终温度为235℃,保持40min的色谱条件,结果各色谱峰基本达到基线分离。本试验建立的丝瓜子脂肪油中4种脂肪酸的含量测定方法稳定简便,可作为丝瓜子的质量控制指标。

[参考文献]

[1] 青海省药品检验所,青海省藏医药研究所. 中国藏药. 第2卷[M]. 上海:上海科学技术出版社,1996:291.

[2] 江苏新医学院. 中药大辞典[M]. 上海:上海科学技术出版社,1977:793.

[3] 闵嗣璠,周雯雯,王纯荣,等. 不同方法提取丝瓜子油的工艺研究[J]. 中国粮油学报,2010,25(4):34.

[4] 卢奎,林强,马丽,等. 丝瓜子油的理化性质及成分分析[J]. 中国油脂,2008,33(10):77.

[5] 周春玲,陈晓辉,毕开顺,等. GC法测定鸦胆子中油酸与亚油酸的含量[J]. 药物分析杂志,2006,26(7):996.

[6] 增建立,杜泽学,陈艳凤,等. 气相色谱分析未衍生化脂肪酸及其甲酯[J]. 石油炼制与化工,2012,43(7):104.

[7] 张媛,王喆之. 火麻仁挥发油的化学成分研究[J]. 天然产物研究与开发,2009,21:259.

[8] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京:中药医药科技出版社,2010:54.

[责任编辑 顾雪竹]